



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 10 2004 047 820 A1 2006.03.30

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: 10 2004 047 820.1

(22) Anmeldetag: 29.09.2004

(43) Offenlegungstag: 30.03.2006

(51) Int Cl.⁸: G02B 21/00 (2006.01)

(71) Anmelder:

Leica Microsystems CMS GmbH, 35578 Wetzlar,
DE

(74) Vertreter:

Reichert, W., Dipl.-Phys.Univ. Dr.rer.nat., Pat.-Ass.,
35578 Wetzlar

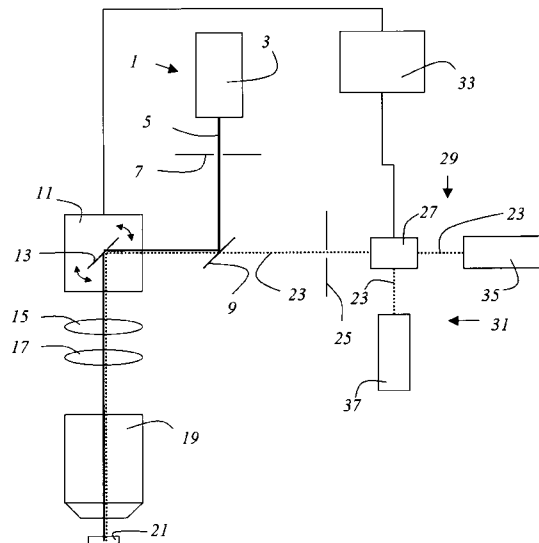
(72) Erfinder:

Schreiber, Frank, 69221 Dossenheim, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: Rastermikroskop und rastermikroskopisches Verfahren

(57) Zusammenfassung: Ein Rastermikroskop mit einem ersten und zumindest einem weiteren Detektionskanal ist offenbart. Der erste Detektionskanal beinhaltet zumindest einen ersten Detektor und der weitere Detektionskanal beinhaltet zumindest einen weiteren Detektor zur Detektion von von einer Probe ausgehendem Detektionslicht. Es ist ein Umschaltmittel vorgesehen, das das Detektionslicht wahlweise in den ersten oder in den weiteren Detektionskanal lenkt.



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein Rastermikroskop mit einem ersten und zumindest einem weiteren Detektionskanal, wobei der erste Detektionskanal zumindest einen ersten Detektor und der weitere Detektionskanal zumindest einen weiteren Detektor zur Detektion von von einer Probe ausgehendem Detektionslicht beinhaltet.

[0002] Die Erfindung betrifft außerdem ein Verfahren zur rastermikroskopischen Untersuchung einer Probe.

[0003] In der Rastermikroskopie wird eine Probe mit einem Lichtstrahl beleuchtet, um das von der Probe emittierte Reflexions- oder Fluoreszenzlicht zu beobachten. Der Fokus eines Beleuchtungslichtstrahles wird mit Hilfe einer steuerbaren Strahlableitvorrichtung, im Allgemeinen durch Verkippen zweier Spiegel, in einer Objektebene bewegt, wobei die Ablenkachsen meist senkrecht aufeinander stehen, so dass ein Spiegel in x-, der andere in y-Richtung ablenkt. Die Verkipfung der Spiegel wird beispielsweise mit Hilfe von Galvanometer-Stellelementen bewerkstelligt. Die Leistung des vom Objekt kommenden Lichtes wird in Abhängigkeit von der Position des Abtaststrahles gemessen. Üblicherweise werden die Stellelemente mit Sensoren zur Ermittlung der aktuellen Spiegelstellung ausgerüstet.

[0004] Speziell in der konfokalen Rastermikroskopie wird ein Objekt mit dem Fokus eines Lichtstrahles in drei Dimensionen abgetastet.

[0005] Ein konfokales Rastermikroskop umfasst im Allgemeinen eine Lichtquelle, eine Fokussieroptik, mit der das Licht der Quelle auf eine Lochblende – die sog. Anregungsblende – fokussiert wird, einen Strahlteiler, eine Strahlableitvorrichtung zur Strahlsteuerung, eine Mikroskopoptik, eine Detektionsblende und die Detektoren zum Nachweis des Detektions- bzw. Fluoreszenzlichtes. Das Beleuchtungslicht wird oft über den Strahlteiler, der beispielsweise als Neutralstrahlteiler oder als dichroitischer Strahlteiler ausgeführt sein kann, eingekoppelt. Neutralstrahlteiler haben den Nachteil, dass je nach Teilungsverhältnis viel Anregungs- oder viel Detektionslicht verloren geht.

[0006] Das vom Objekt kommende Fluoreszenz- oder Reflexionslicht gelangt über die Strahlableitvorrichtung zurück zum Strahlteiler, passiert diesen, um anschließend auf die Detektionsblende fokussiert zu werden, hinter der sich die Detektoren befinden. Detektionslicht, das nicht direkt aus der Fokusregion stammt, nimmt einen anderen Lichtweg und passiert die Detektionsblende nicht, so dass man eine Punktinformation erhält, die durch sequentielles Abtasten des Objekts zu einem dreidimensionalen Bild führt.

Meist wird ein dreidimensionales Bild durch schichtweise Bilddatennahme erzielt, wobei die Bahn des Abtastlichtstrahles auf bzw. in dem Objekt Idealerweise einen Mäander beschreibt. (Abtasten einer Zeile in x-Richtung bei konstanter y-Position, anschließend x-Abtastung anhalten und per y-Verstellung auf die nächste abzutastende Zeile schwenken und dann, bei konstanter y-Position, diese Zeile in negative x-Richtung abtasten u.s.w.). Um eine schichtweise Bilddatennahme zu ermöglichen, wird der Probenstisch oder das Objektiv nach dem Abtasten einer Schicht verschoben und so die nächste abzutastende Schicht in die Fokusebene des Objektivs gebracht.

Stand der Technik

[0007] Bei vielen Anwendungen werden Proben mit mehreren Markern, beispielsweise mehreren unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen präpariert. Diese Farbstoffe können sequentiell, beispielsweise mit Beleuchtungslichtstrahlen, die unterschiedliche Anregungswellenlängen aufweisen, angeregt werden. Auch eine simultane Anregung mit einem Beleuchtungslichtstrahl, der Licht mehrerer Anregungswellenlängen beinhaltet, ist üblich. Aus der Europäischen Patentanmeldung EP 0 495 930: „Konfokales Mikroskopsystem für Mehrfarbenfluoreszenz“ ist beispielsweise eine Anordnung mit einem einzelnen mehrere Laserlinien emittierenden Laser bekannt. Derzeit sind in der Praxis solche Laser meist als Mischgaslaser, insbesondere als ArKr-Laser, ausgebildet.

[0008] Zur simultanen Detektion des von der Probe ausgehenden Detektionslichtes werden oft Multi-banddetektoren eingesetzt. Aus der Offenlegungsschrift DE 4330347 A1 ist eine Vorrichtung zur Selektion und Detektion mindestens zweier Spektralbereiche eines Lichtstrahls, mit einer Selektionseinrichtung und einer Detektionseinrichtung bekannt. Die Vorrichtung ist zur zuverlässigen gleichzeitigen Selektion und Detektion unterschiedlicher Spektralbereiche bei hoher Ausbeute und bei einfachster Konstruktion derart ausgestaltet, dass die Selektionseinrichtung Bauteil zur spektralen Aufspaltung des Lichtstrahls – beispielsweise ein Prisma oder ein Gitter – und Mittel einerseits zum Ausblenden eines ersten Spektralbereichs und andererseits zur Reflexion zumindest eines Teils des nicht ausgeblendeten Spektralbereichs und die Detektionseinrichtung einen im Strahlengang des ausgeblendeten ersten Spektralbereichs angeordneten ersten Detektor und einen im Strahlengang des reflektierten Spektralbereichs angeordneten zweiten Detektor umfasst. Als Mittel zum Ausblenden eines ersten Spektralbereichs und andererseits zur Reflexion zumindest eines Teils des nicht ausgeblendeten Spektralbereichs ist vorzugsweise eine Spaltblendenvorrichtung mit verspiegelten Blendenbacken vorgesehen. Die Vorrichtung ist insbe-

sondere als Multibanddetektor in einem Rastermikroskop einsetzbar.

Aufgabenstellung

[0009] Es ist die Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Rastermikroskop anzugeben, das auf flexible Weise – insbesondere auch während des Abrasterns einer Probe – die Verwendung der jeweils optimalen Detektortypen zu ermöglicht.

[0010] Diese Aufgabe wird durch ein Rastermikroskop gelöst, das dadurch gekennzeichnet ist, dass ein Umschaltmittel vorgesehen ist, das das Detektionslicht wahlweise in den ersten und/oder in den weiteren Detektionskanal lenkt.

[0011] Es ist eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren zu rastermikroskopischen Untersuchung einer Probe anzugeben, das eine weitgehend flexible und effiziente Detektion des von der Probe ausgehenden Detektionslichtes ermöglicht.

[0012] Die weitere Aufgabe wird durch ein Verfahren gelöst, das durch die folgenden Schritte gekennzeichnet ist:

- Erzeugen eines Übersichtsbildes einer Probe,
- Bestimmen von zumindest einem Bereich innerhalb des Übersichtsbildes,
- Beleuchten der Probe mit Beleuchtungslicht,
- Detektieren von von der Probe ausgehendem Detektionslicht, wobei das aus dem Bereich stammende Detektionslicht in einen ersten Detektionskanal gelenkt wird und zumindest ein Teil des übrigen Detektionslichts in einen weiteren Detektionskanal gelenkt wird.

[0013] Vorteilhafter Weise kann erfindungsgemäß sehr schnell – sogar innerhalb eines Bildes vorzugsweise sogar pixelgenau – zwischen unterschiedlichen Detektionskanälen hin und her geschaltet werden. Der Benutzer kann vorzugsweise zunächst ein Übersichtsbild generieren und in diesem markieren (beispielsweise mit einem Zeigegerät, wie einer Computermaus) für welche Bereiche der Probe welcher Detektionskanal verwendet werden soll. So ist es beispielsweise möglich, sehr schwach fluoreszierende Bereiche mit einer APD (Avalanche-Photodiode) zu detektieren, während man gleichzeitig für andere hellere Bereiche das gesamte Spektrum des Detektionslichtes (beispielsweise mit einem Spektrometer als Detektor) ermittelt. Wieder an einer anderen Stelle (anderer Bereich) kann beispielsweise mittels Fluoreszenz-Lifetime-Messungen die Lebensdauer der Probenfarbstoffe ermittelt werden.

[0014] In einer bevorzugten Ausführungsvariante umfasst das Rastermikroskop eine Scaneinrichtung, wobei das Umschaltmittel das Detektionslicht in Abhängigkeit von der jeweiligen Scanposition in den

ersten oder in den weiteren Detektionskanal lenkt.

[0015] Vorzugsweise ist mit dem Rastermikroskop eine Probe punktweise abtastbar, wobei das Umschaltmittel das von benachbarten Scanpunkten ausgehende Detektionslicht in unterschiedliche Detektionskanäle lenkt. In einer anderen Variante ist eine Probe linienweise abtastbar, wobei das Umschaltmittel das von benachbarten Scanlinien ausgehende Detektionslicht in unterschiedliche Detektionskanäle lenkt.

[0016] In einer besonders bevorzugten Variante sind beliebige Bereiche (Punkte, Linien, Flächen, Volumen) vorzugsweise beliebig festlegbarer Begrenzung auswählbar und jedem ausgewählten Bereich ein oder mehrere Detektionskanäle zuordenbar.

[0017] In einer besonderen Ausgestaltungsvariante ist eine einstellbare Strahlableitvorrichtung vorgesehen. Das Umschaltmittel lenkt das Detektionslicht bei dieser Variante in Abhängigkeit von der Ablenkstellung der Strahlableitvorrichtung in den ersten oder in den weiteren Detektionskanal.

[0018] Vorzugsweise beinhaltet der erste Detektor und/oder der weitere Detektor einen Photomultiplier und/oder eine Photodiode und/oder eine CCD und/oder ein EMCCD und/oder eine Avalanche-Photodiode und/oder ein Spektrometer und/oder einen Multibanddetektor.

[0019] Vorteilhafter Weise können der erste Detektor und der weitere Detektor zu unterschiedliche Detektortypen gehören.

[0020] Das Umschaltmittel umfasst insbesondere zum schnellen Umschalten zwischen den Detektionskanälen in einer bevorzugten Ausführungsform einen optischen Shutter. Bei diesem wird der Effekt der frustrierten Totalreflexion ausgenutzt. Ein beispielsweise ca. 0,5 Mikrometer breiter Spalt zwischen einem ersten optischen Körper und einem zweiten optischen Körper (vorzugsweise Glasprismen) kann mit Hilfe von Piezostellelementen geschlossen und geöffnet werden, wobei zwischen Totaler Reflexion an einer Grenzfläche und der damit verbundenen Einkopplung in einen Detektionskanal und der Transmission durch die Grenzfläche und der damit verbundenen Einkopplung in einen anderen Detektionskanal umgeschaltet werden kann. Durch Einstellung des Relativabstandes zwischen dem ersten und dem zweiten optischen Körper kann der Reflexionsgrad eingestellt werden. Hierdurch ist es ermöglicht, gleichzeitig einen vorgebbaren Anteil des Detektionslichtes in einen Detektionskanal und einen anderen Anteil in einen anderen Detektionskanal zu lenken. Zum Einstellen des Relativabstandes ist vorzugsweise ein Einstellmittel vorgesehen, das – wie bereits erwähnt – Piezostellelemente beinhalten kann. Das

Einstellmittel kann beispielsweise auch einen Verschiebetisch, der vorzugsweise motorisch angetrieben ist, beinhalten.

[0021] Der Effekt der frustrierten Totalreflexion ist nahezu wellenlängen- und polarisationsunabhängig, so dass ein Umschaltmittel, das auf dieser Basis arbeitet besonders vorteilhaft in einem Rastermikroskop verwendbar ist.

[0022] Das Umschaltmittel beinhaltet in einer anderen Variante einen Klappspiegel und/oder einen Drehspiegel. In einer weiteren Ausgestaltungsform beinhaltet das Umschaltmittel ein akustooptisches Bauteil, insbesondere einen AOM.

[0023] Vorzugsweise ist das Rastermikroskop als konfokales Rastermikroskop ausgebildet.

Ausführungsbeispiel

[0024] In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben, wobei gleich wirkende Bauteile mit denselben Bezugszeichen versehen sind. Dabei zeigen:

[0025] Fig. 1 Ein erfindungsgemäße Rastermikroskop,

[0026] Fig. 2 eine Detailansicht eines erfindungsgemäßen Rastermikroskops,

[0027] Fig. 3 eine Detailansicht eines erfindungsgemäßen Rastermikroskops, und

[0028] Fig. 4 eine weitere Detailansicht eines erfindungsgemäßen Rastermikroskops.

[0029] Fig. 1 zeigt ein erfindungsgemäße Rastermikroskop, das als konfokales Rastermikroskop ausgebildet ist. Das Rastermikroskop weist eine Beleuchtungslichtquelle 1 auf, die als Mehrlinienlaser 3 ausgeführt ist und die ein Beleuchtungslichtstrahlenbündel 5 erzeugt. Das Beleuchtungslichtstrahlenbündel 5 passiert die Beleuchtungslochblende 7 und wird anschließend von einem Hauptstrahlteiler 9, der als dichroitischer Filter ausgebildet ist, zur Strahlableit-einrichtung 11, die einen kardanisch aufgehängten Scanspiegel 13 beinhaltet. Die Strahlableit-einrichtung 11 führt das Beleuchtungslichtstrahlenbündel 5 durch die Scanoptik 15, die Tubusoptik 17, sowie durch das Objektiv 19 über bzw. durch die Probe 21. Das Beleuchtungslichtstrahlenbündel 5 ist in der Figur mit ausgezogenen Linien dargestellt. Das von der Probe ausgehende Detektionslicht 23 (z.B. Reflexionslicht oder Fluoreszenzlicht...) gelangt auf demselben Lichtweg, nämlich durch das Objektiv 19, die Tubusoptik 17, sowie durch die Scanoptik 15 zurück zur Strahlableit-einrichtung 11, die das Detektionslicht

23 zum Hauptstrahlteiler 9 lenkt. Das Detektionslicht 23 passiert den Hauptstrahlteiler 9 und die folgende Detektionslochblende 25 und gelangt anschließend zu einem Umschaltmittel 27, das das Detektionslicht 23 wahlweise in einen ersten Detektionskanal 29 und/oder in einen weiteren Detektionskanal 31 lenkt. Das Detektionslicht 23 ist in der Figur mit gestrichelten Linien dargestellt. Das Umschaltmittel 27 wird von einer elektronischen Kontrolleinheit 33 gesteuert und lenkt das Detektionslicht 23 in Abhängigkeit von der Ablenkstellung der Strahlableit-einrichtung 11, die ebenfalls von der Kontrolleinheit 33 gesteuert ist, in den ersten Detektionskanal 29 oder in den weiteren Detektionskanal 31. Der erste Detektionskanal 29 beinhaltet einen ersten Detektor 35, der als Photomultiplier ausgeführt ist. Der weitere Detektionskanal 31 beinhaltet einen weiteren Detektor 37, der als Avalanche-Photodiode ausgeführt ist.

[0030] Fig. 2 zeigt eine Detailansicht eines erfindungsgemäßen Rastermikroskops nämlich insbesondere eine Ausführungsvariante eines Umschaltmittels 27, das das Detektionslicht 23 wahlweise in einen ersten Detektionskanal 29 und/oder in einen weiteren Detektionskanal 31 lenkt. Das hier gezeigte Umschaltmittel könnte beispielsweise Bestandteil des in Fig. 1 gezeigten Rastermikroskops sein. Das Umschaltmittel 27 weist einen ersten optischen Körper 39 und einen zweiten optischen Körper 41 auf, deren Relativabstand 49 einstellbar ist. Der erste optische Körper 39 und der zweiten optische Körper 41 sind jeweils als Glasprismen ausgebildet. Der erste optische Körper weist eine Grenzfläche 43 auf, an der das Detektionslicht totalreflektierbar ist. Zur Einstellung des Relativabstandes 49 zwischen dem ersten optischen Körper 39 und dem zweiten optischen Körper 41 ist ein Einstellmittel 45 vorgesehen, das ein Piezo-Element 47 umfasst. Mit dem Piezo-Element 47 kann der zweite optische Körper 41 der Grenzfläche 43 des ersten optischen Körpers angenähert werden. beträgt der Relativabstand 49 ca. 0,5 µm, so dass das Detektionslicht 23 an der Grenzfläche 43 weitgehend vollständig totalreflektiert wird und in den weiteren Detektionskanal 31, der einen weiteren Detektor 37 zur Detektion des Detektionslichts 23 beinhaltet, gelangt. In der gezeigten Stellung empfängt der erste Detektor 35 des ersten Detektionskanals 29 kein Detektionslicht 23.

[0031] Fig. 3 zeigt die aus Fig. 2 bekannte Detailansicht, jedoch mit auf Null verringertem Relativabstand 49. An der Grenzfläche 43 wird in dieser Stellung nahezu kein Detektionslicht 23 reflektiert, so dass das Detektionslicht 23 nahezu vollständig den ersten optischen Körper 39 sowie den zweiten optischen Körper 41 passiert und in den ersten Detektionskanal 29 der einen ersten Detektor 35 zur Detektion des Detektionslichts 23 beinhaltet, gelangt.

[0032] Fig. zeigt die aus Fig. 2 bekannte Detailan-

sicht, jedoch mit einem Relativabstand **49**, der so gewählt ist, dass ein Teil des Detektionslichts **23** totalreflektiert wird und in den weiteren Detektionskanal **31** gelenkt wird, während ein anderer Teil des Detektionslichts **23** den ersten optischen Körper **39** sowie den zweiten optischen Körper **41** passiert und in den ersten Detektionskanal **29** gelangt. Der Reflexionsgrad ist durch Variieren des Relativabstandes **49** zwischen dem ersten und dem zweiten optischen Körper einstellbar.

[0033] Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

Bezugszeichenliste

| | |
|----|---------------------------------|
| 1 | Beleuchtungslichtquelle |
| 3 | Mehrlinienlaser |
| 5 | Beleuchtungslichtstrahlenbündel |
| 7 | Beleuchtungslochblende |
| 9 | Hauptstrahlteiler |
| 11 | Strahlableinrichtung |
| 13 | Scanspiegel |
| 15 | Scanoptik |
| 17 | Tubusoptik |
| 19 | Objektiv |
| 21 | Probe |
| 23 | Detektionslicht |
| 25 | Detektionslochblende |
| 27 | Umschaltmittel |
| 29 | erster Detektionskanal |
| 31 | weiterer Detektionskanal |
| 33 | Kontrolleinheit |
| 35 | erster Detektor |
| 37 | weiterer Detektor |
| 39 | erster optischer Körper |
| 41 | weiterer optischer Körper |
| 43 | Grenzfläche |
| 45 | Einstellmittel |
| 47 | Piezo-Element |
| 49 | Relativabstand |

Patentansprüche

1. Rastermikroskop mit einem ersten und zumindest einem weiteren Detektionskanal, wobei der erste Detektionskanal zumindest einen ersten Detektor und der weitere Detektionskanal zumindest einen weiteren Detektor zur Detektion von von einer Probe ausgehendem Detektionslicht beinhaltet, **dadurch gekennzeichnet**, dass ein Umschaltmittel vorgesehen ist, das das Detektionslicht wahlweise in den ersten und/oder in den weiteren Detektionskanal lenkt.

2. Rastermikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Rastermikroskop eine

Scaneinrichtung umfasst und dass das Umschaltmittel das Detektionslicht in Abhängigkeit von der jeweiligen Scanposition in den ersten oder in den weiteren Detektionskanal lenkt.

3. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass mit dem Rastermikroskop eine Probe punktweise abtastbar ist, und dass das Umschaltmittel das von benachbarten Scanpunkten ausgehende Detektionslicht in unterschiedliche Detektionskanäle lenkt.

4. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass mit dem Rastermikroskop eine Probe linienweise abtastbar ist, und dass das Umschaltmittel das von benachbarten Scanlinien ausgehende Detektionslicht in unterschiedliche Detektionskanäle lenkt.

5. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass eine einstellbare Strahlableinrichtung vorgesehen ist und dass das Umschaltmittel das Detektionslicht in Abhängigkeit von der Ablenkstellung der Strahlableinrichtung in den ersten oder in den weiteren Detektionskanal lenkt.

6. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das erste Detektor und/oder der weitere Detektor einen Photomultiplier und/oder eine Photodiode und/oder eine CCD und/oder ein EMCCD und/oder eine Avalanche-Photodiode und/oder ein Spektrometer und/oder einen Multibanddetektor beinhaltet.

7. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das erste Detektor und der weitere Detektor zu unterschiedliche Detektortypen gehören.

8. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass ein Mittel zur Erzeugung eines Übersichtsbildes vorgesehen ist.

9. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Umschaltmittel einen optischen Shutter umfasst.

10. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Umschaltmittel nach dem Prinzip der frustrierten Totalreflexion wirkt.

11. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass das Umschaltmittel einen ersten optischen Körper mit und einen zweiten optischen Körper aufweist, deren Relativabstand einstellbar ist.

12. Rastermikroskop nach Anspruch 11, dadurch

gekennzeichnet, dass der erste optische Körper eine Grenzfläche aufweist an der das Detektionslicht totalreflektierbar ist.

13. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass der erste optische Körper eine Grenzfläche aufweist an der das Detektionslicht totalreflektierbar ist, wobei der Reflexionsgrad durch Variieren des Relativabstandes zwischen dem ersten und dem zweiten optischen Körper einstellbar ist.

14. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 11 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass zur Einstellung des Relativabstandes ein Einstellmittel vorgesehen ist.

15. Rastermikroskop nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass das Einstellmittel ein Piezo-Element umfasst.

16. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 11 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass das erste optische Körper und/oder der zweite optische Körper als Prisma ausgebildet ist.

17. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass das Umschaltmittel einen Klappspiegel und/oder einen Drehspiegel beinhaltet.

18. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass das Umschaltmittel ein akustooptisches Bauteil, insbesondere einen AOM, beinhaltet.

19. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass das Rastermikroskop ein konfokales Rastermikroskop ist.

20. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 19, gekennzeichnet durch die Verwendung bei Lebensdauermessungen von Probenfarbstoffen, insbesondere von Fluoreszenzfarbstoffen.

21. Verfahren zur rastermikroskopischen Untersuchung einer Probe gekennzeichnet durch folgende Schritte:

- Erzeugen eines Übersichtsbildes einer Probe,
- Bestimmen von zumindest einem Bereich innerhalb des Übersichtsbildes,
- Beleuchten der Probe mit Beleuchtungslicht,
- Detektieren von von der Probe ausgehendem Detektionslicht, wobei das aus dem Bereich stammende Detektionslicht in einen ersten Detektionskanal gelenkt wird und zumindest ein Teil des übrigen Detektionslichts in einen weiteren Detektionskanal gelenkt wird.

22. Verfahren nach Anspruch 21, dadurch ge-

kennzeichnet, dass der erste Detektionskanal zumindest einen ersten Detektor und der weitere Detektionskanal zumindest einen weiteren Detektor zur Detektion von von einer Probe ausgehendem Detektionslicht beinhaltet.

23. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 oder 22, dadurch gekennzeichnet, dass ein Umschaltmittel vorgesehen ist, das das Detektionslicht wahlweise in den ersten oder in den weiteren Detektionskanal lenkt.

24. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 23, dadurch gekennzeichnet, dass eine Scaneinrichtung vorgesehen ist und dass das Detektionslicht in Abhängigkeit von der jeweiligen Scanposition in den ersten oder in den weiteren Detektionskanal gelenkt wird.

25. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass eine Probe punktweise abgerastert wird, und dass das von benachbarten Scanpunkten ausgehende Detektionslicht in unterschiedliche Detektionskanäle gelenkt wird.

26. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass eine Probe linienweise abgerastert wird, und dass das von benachbarten Scanlinien ausgehende Detektionslicht in unterschiedliche Detektionskanäle gelenkt wird.

27. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 26, dadurch gekennzeichnet, dass eine einstellbare Strahlableinrichtung vorgesehen ist und dass das Detektionslicht in Abhängigkeit von der Ablenkstellung der Strahlableinrichtung in den ersten oder in den weiteren Detektionskanal gelenkt wird.

28. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 27, dadurch gekennzeichnet, dass das erste Detektor und/oder der weitere Detektor einen Photomultiplier und/oder eine Photodiode und/oder eine CCD und/oder ein EMCCD und/oder eine Avalanche-Photodiode beinhaltet.

29. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 28, dadurch gekennzeichnet, dass das erste Detektor und der weitere Detektor Detektoren unterschiedlichen Typs sind.

30. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass das Umschaltmittel einen optischen Shutter umfasst.

31. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 30, dadurch gekennzeichnet, dass das Umschaltmittel nach dem Prinzip der frustrierten Totalreflexion wirkt.

32. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis

31, dadurch gekennzeichnet, dass das Umschaltmittel einen ersten optischen Körper mit und einen zweiten optischen Körper aufweist, deren Relativabstand einstellbar ist.

33. Verfahren nach Anspruch 32, dadurch gekennzeichnet, dass der erste optische Körper eine Grenzfläche aufweist an der das Detektionslicht totalreflektierbar ist.

34. Verfahren nach einem der Ansprüche 32 oder 33, dadurch gekennzeichnet, dass der erste optische Körper eine Grenzfläche aufweist an der das Detektionslicht totalreflektiert wird, wobei der Reflexionsgrad durch Variieren des Relativabstandes zwischen dem ersten und dem zweiten optischen Körper eingestellt wird.

35. Verfahren nach einem der Ansprüche 32 bis 34, dadurch gekennzeichnet, dass zur Einstellung des Relativabstandes ein Einstellmittel vorgesehen ist.

36. Verfahren nach Anspruch 35, dadurch gekennzeichnet, dass das Einstellmittel ein Piezo-Element umfasst.

37. Verfahren nach einem der Ansprüche 32 bis 36, dadurch gekennzeichnet, dass das erste optische Körper und/oder der zweite optische Körper als Prisma ausgebildet ist.

38. Verfahren nach einem der Ansprüche 23 bis 37, dadurch gekennzeichnet, dass das Umschaltmittel einen Klappspiegel und/oder einen Drehspiegel beinhaltet.

39. Verfahren nach einem der Ansprüche 23 bis 38, dadurch gekennzeichnet, dass das Umschaltmittel ein akustooptisches Bauteil, insbesondere einen AOM, beinhaltet.

40. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 39, gekennzeichnet durch die Ausführung mit einem konfokalen Rastermikroskop.

41. Verfahren nach einem der Ansprüche 21 bis 40, gekennzeichnet durch die Verwendung bei Lebensdauermessungen von Probenfarbstoffen, insbesondere von Fluoreszenzfarbstoffen.

Es folgen 4 Blatt Zeichnungen

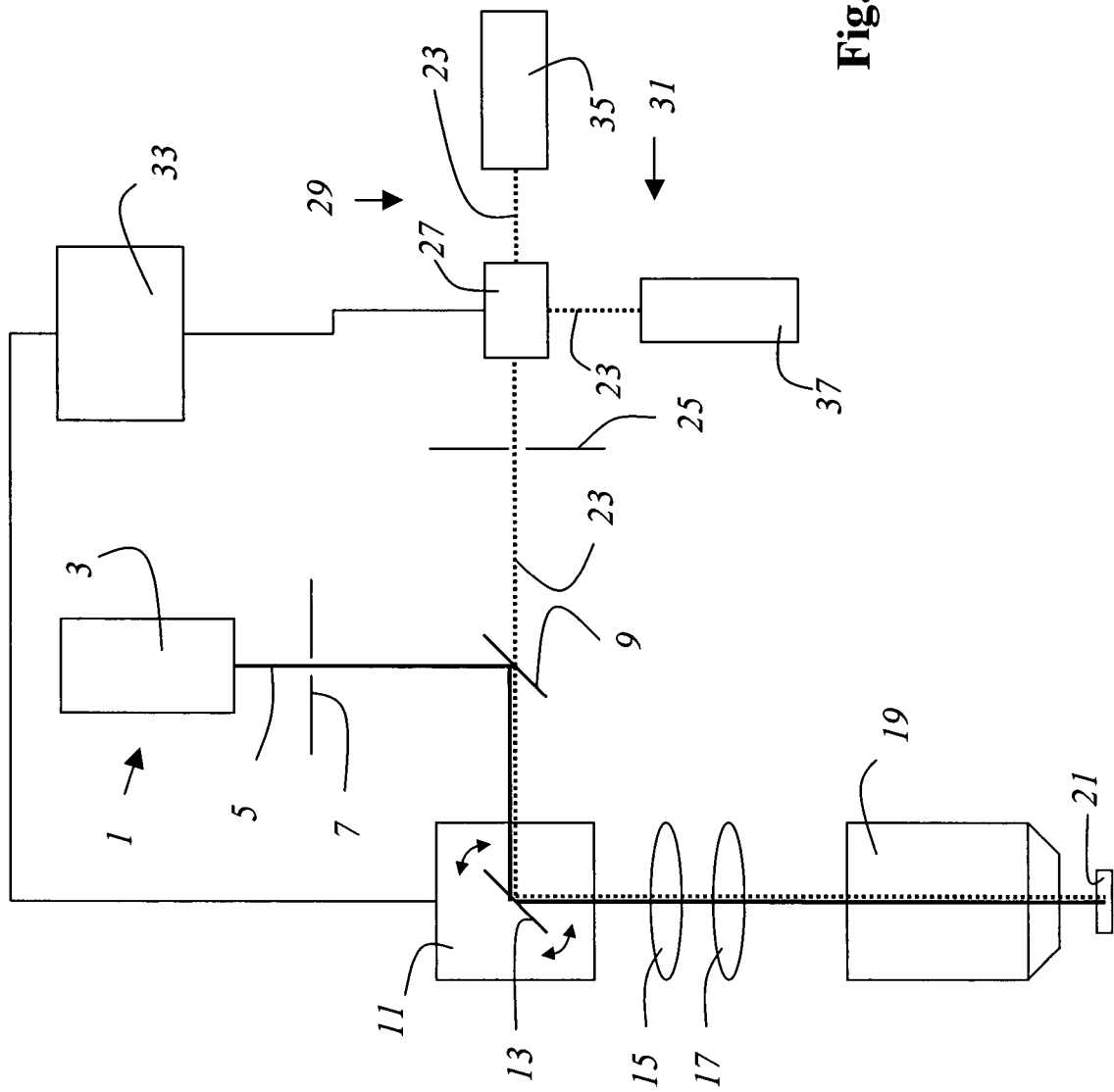


Fig. 1

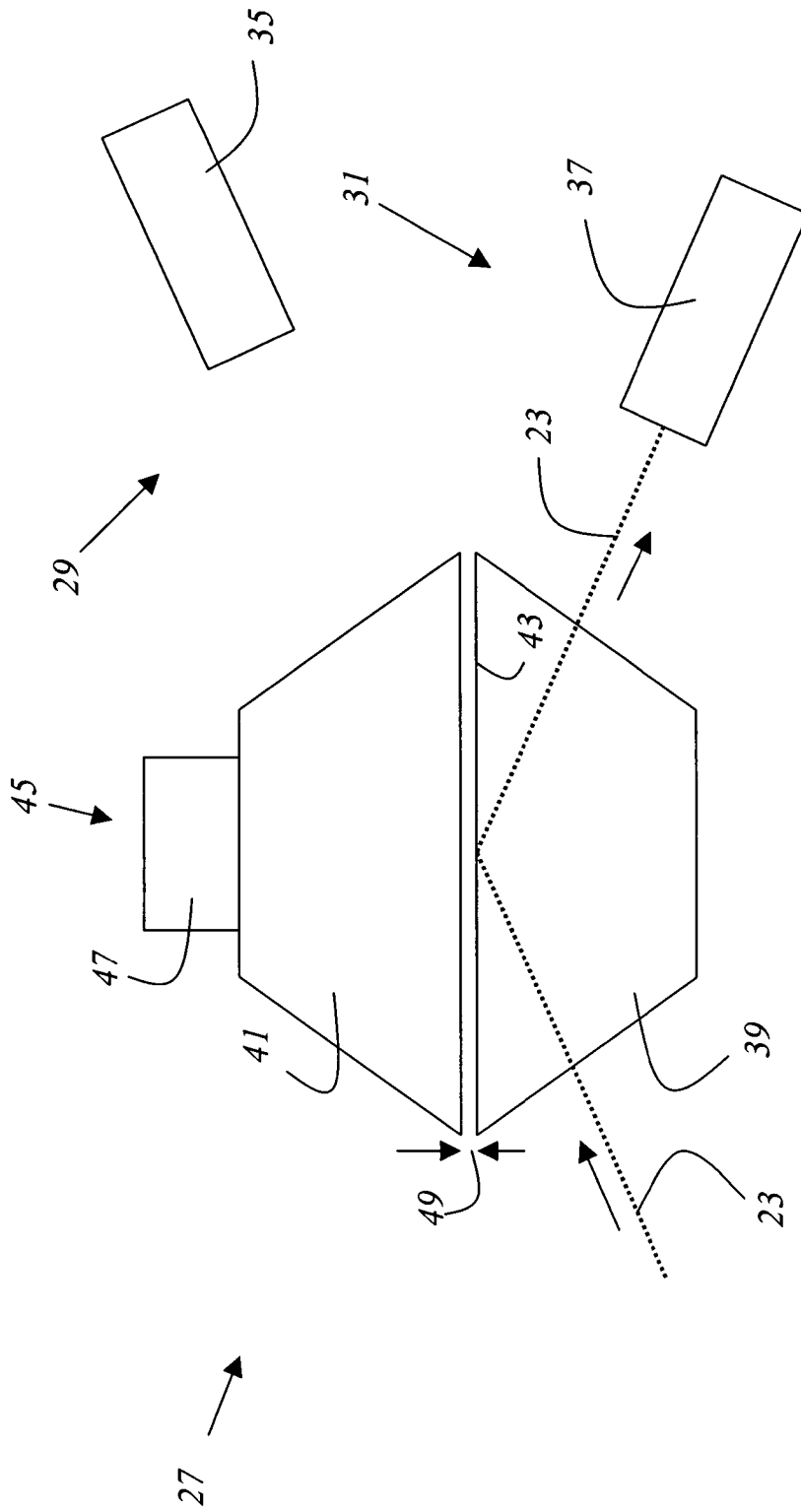


Fig. 2

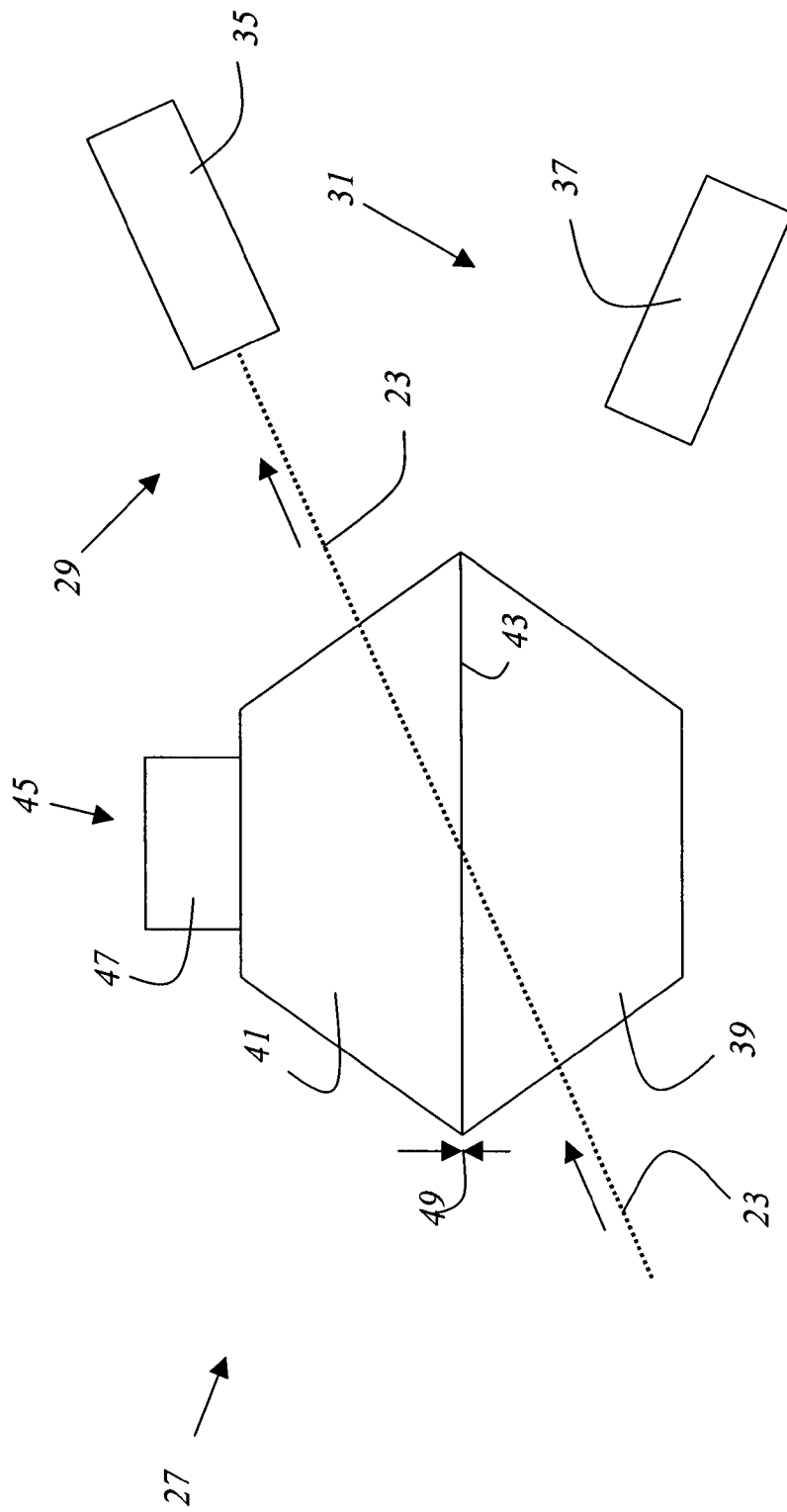


Fig. 3

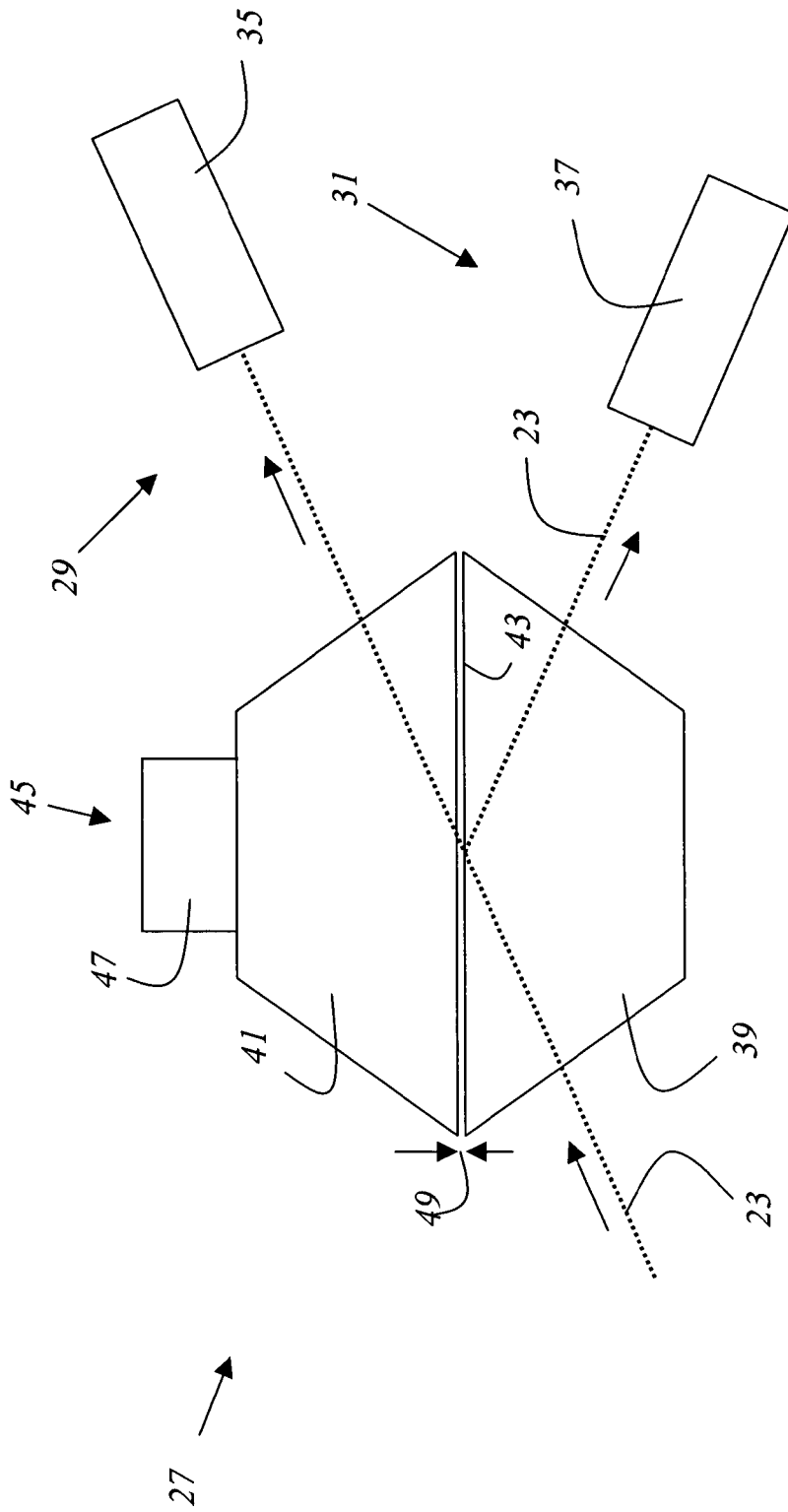


Fig. 4